

บทความพิเศษ

ความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่โลหิตแพทย์พึงระวัง

(Potential Hazard from Using Mesenchymal Stem Cells: What Hematologist Should Beware of)

ศุภชัย เอกวัฒนกิจ¹ และ วิปร วิประกษิต²

¹ศูนย์เซลล์สเต็มและศูนย์แห่งความเป็นเลิศด้านยีนและเซลล์บำบัด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ²ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ ศูนย์เซลล์สเต็มและศูนย์แห่งความเป็นเลิศด้านยีนและเซลล์บำบัด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาวิจัยทางการแพทย์ถึงการนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cells หรือ mesenchymal stromal cells, MSCs) มาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ มากขึ้น จากการสืบค้นฐานข้อมูลของห้องสมุดทางการแพทย์แห่งประเทศไทยหรือ PubMed ด้วยคำค้นหา “mesenchymal stem cell” พบว่ามีบทความวิจัยมากถึง 765 งานนับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 ที่ศึกษาวิจัยในรูปแบบ “clinical trial” ในมนุษย์ ปัจจุบัน MSCs ได้รับการขึ้นทะเบียนให้ใช้ในการรักษาโรค graft versus host disease (GVHD) ชนิดเฉียบพลันในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกในประเทศแคนาดา สำหรับกรณีที่ต้องได้รับการรักษาด้วยสเตียรอยด์หรือยากกดภูมิคุ้มกันชนิดอื่น และในประเทศญี่ปุ่นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2558 โดยยังอยู่ระหว่างการพิจารณาอนุมัติในประเทศสหรัฐอเมริกา สำหรับในประเทศไทย MSCs ยังไม่ได้ถูกรับรองขึ้นทะเบียนตำรับยาที่เป็นผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงชนิดผลิตภัณฑ์เซลล์บำบัด (advanced therapy medicinal products) อย่างไรก็ตามเริ่มมีการนำ MSCs มาใช้กันอย่างแพร่หลายในวงการแพทย์ทางเลือกโดยเฉพาะในคลินิกด้านความงามและเวชศาสตร์ชะลอวัยและการฟื้นฟูสุขภาพ (anti-aging and regenerative medicine clinic) บทความนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อรวบรวมและทบทวนความรู้จากงานวิจัยในต่างประเทศ โดยเฉพาะในด้านความปลอดภัยของการนำ MSCs มาใช้ในทางคลินิก โดยเฉพาะภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้ในระยะยาว เพื่อให้โลหิตแพทย์ในฐานะผู้ที่เกี่ยวข้องโดยตรงจากภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวสามารถให้คำแนะนำเพื่อการดูแลรักษาและป้องกันภาวะแทรกซ้อนได้อย่างถูกต้อง

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์คืออะไร

ในปี พ.ศ. 2534 ดร. Arnold I. Caplan เป็นผู้ริเริ่มการใช้คำเรียกกลุ่มเซลล์กลุ่มหนึ่งว่า mesenchymal stem cell หรือเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ซึ่งหมายถึงเซลล์ต้นกำเนิดชนิดหนึ่ง

ในกลุ่มเซลล์ต้นกำเนิดเนื้อเยื่อที่โตเต็มวัย (adult stem cell) มีคุณสมบัติสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนตัวเอง (self-renewal) และพัฒนาไปเป็นเซลล์เนื้อเยื่อปลายทาง (differentiation) ในประเภทที่ถูกกำหนดไว้แล้ว (multipotency) คือ กลุ่มเนื้อเยื่อชั้นกลางหรือมีโซเดิร์ม (mesoderm) อันได้แก่ เซลล์กระดูก เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์ไขมัน² อย่างไรก็ตามมีข้อมูลจากการวิจัยที่เพิ่มขึ้นในเวลาต่อมาถึงคุณสมบัติของความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของ mesenchymal stem cell นั้นไม่เข้าเกณฑ์ที่จะเรียกว่าเป็นสเต็มเซลล์ โดยเฉพาะความสามารถในการแบ่งเซลล์ตัวเองที่พบว่ามีข้อจำกัด จึงมีการสนับสนุนให้ใช้คำเรียก mesenchymal stromal cell (MSCs) แทนในเวลาต่อมา³ MSCs สามารถเก็บแยกได้จากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของอวัยวะเกือบทุกชนิด⁴ ตัวอย่างแหล่งที่มาของ MSCs ที่สำคัญทางคลินิก ได้แก่ ไขกระดูก ไขมัน สายสะดือ และรก เนื่องจากกระบวนการแยกเก็บและเพาะเลี้ยง MSCs มีได้หลากหลายวิธี และ MSCs ที่ได้จากกรรมวิธีและแหล่งเซลล์ตั้งต้นที่แตกต่างกันมีความหลากหลายของเซลล์ในด้านคุณสมบัติและหน้าที่ของเซลล์^{5,6} สมาคมเซลล์บำบัดนานาชาติ (The International Society of Cellular Therapy) จึงได้นิยามเกณฑ์คุณสมบัติขั้นต่ำ (minimal criteria) ของ MSCs ขึ้นมาเพื่อให้นักวิทยาศาสตร์สามารถนำไปใช้อ้างอิงในการศึกษาวิจัยให้ตรงกันดังนี้⁷

1) เซลล์ MSCs มีความสามารถในการเกาะติดกับภาชนะพลาสติก (adhesion to plastic flask) ในสภาวะมาตรฐานของกระบวนการเพาะเลี้ยงเซลล์

2) เซลล์ MSCs มีการแสดงออกของโปรตีน CD105, CD73 และ CD90 บนผิวเซลล์ (การตรวจพบเซลล์ที่มีผลบวกมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 95 ด้วยวิธีการตรวจด้วย Flow cytometer) และไม่มีการแสดงออกของ CD45, CD34, CD14 หรือ CD11b, CD79alpha หรือ CD19 และ HLA-DR บนผิวเซลล์ (การตรวจพบเซลล์ที่มีผลบวกน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 2 ด้วยวิธีการตรวจด้วย Flow cytometer)

ทั้งนี้ข้อมูลการศึกษาในระยะเวลาต่อมาพบว่า คุณสมบัติของ เซลล์ MSCs บางชนิดอาจมีการแสดงออกของโปรตีนบางชนิดที่แตกต่างไปจากข้อกำหนดนี้ได้ ซึ่งเกิดจากความหลากหลายของแหล่งที่มาของเนื้อเยื่อต้นทาง วิธีการเพาะเลี้ยงและระยะเวลาการเพาะเลี้ยง MSCs³

3) เซลล์ MSCs สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์เนื้อเยื่อปลายทางในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* differentiation) ได้ทั้ง 3 ชนิด คือ เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และเซลล์กระดูกอ่อน (Figure 1)

กลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญของเซลล์ MSCs ในการรักษาได้แก่ ความสามารถในการพัฒนาไปเป็นเซลล์เนื้อเยื่อปลายทาง การหลั่งสารกลุ่ม cytokines chemokines และ growth factors ที่มีผลต่อเซลล์และเนื้อเยื่อเป้าหมาย (paracrine effects) การปรับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) ตลอดจนความสามารถในการเคลื่อนย้ายไปออกฤทธิ์ในตำแหน่งต่าง ๆ ของร่างกาย (homing effect) ซึ่งบทความนี้จะกล่าวถึงกลไกการออกฤทธิ์ในรายละเอียดและผู้อ่านสามารถหาอ่านเพิ่มเติมได้จากบทความอื่น⁸⁻¹⁰ ทั้งนี้ในปัจจุบันกลไกการออกฤทธิ์ของเซลล์ MSCs ยังไม่เป็นที่สรุปแน่ชัดทั้งหมด แต่เชื่อว่ากลไกหลักในการรักษาโรครณีที่ให้ เซลล์ MSCs ทางหลอดเลือดไม่ได้เป็นผลจากการที่เซลล์เข้าไปเจริญทดแทนเซลล์เดิมในร่างกาย (differentiation) เนื่องจากมีข้อมูลจากสัตว์ทดลองพบว่า allogeneic MSCs ที่ให้ทางหลอดเลือดจะคงอยู่ในร่างกายสัตว์ทดลองได้เพียง 2 สัปดาห์ และการศึกษาในผู้ป่วยโรค GVHD ภายหลังจากเสียชีวิตแล้ว (autopsy study) พบสารพันธุกรรมจากเซลล์ MSCs ของผู้บริจาคอยู่ในต่อมน้ำเหลืองและลำไส้เล็กในช่วงสัปดาห์แรก และตรวจพบน้อยมากหรือไม่พบเลยภายในช่วงเวลา 2-3 สัปดาห์หลังจากได้รับเซลล์ MSCs¹¹⁻¹³

ลักษณะการใช้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ในการศึกษาวิจัยในมนุษย์

ปัจจุบันการศึกษาวิจัยที่ใช้เซลล์ MSCs ในการรักษาโรคในมนุษย์ไม่ได้จำกัดเพียงแต่ในกลุ่มโรคที่เกิดจากความเสื่อม (degenerative diseases) เท่านั้น แต่ยังรวมไปถึงโรคในแทบทุกกลุ่มโรค ตัวอย่างงานวิจัยในระยะที่ 1 และ 2 ในโรคที่น่าสนใจและรายละเอียดวิธีการใช้ MSCs แสดงใน Table 1

แม้ว่าปริมาณเซลล์ที่ใส่และวิธีการบริหารเซลล์เข้าสู่ร่างกายจะมีความแตกต่างกันในแต่ละการศึกษา วิธีการใช้ที่พบบ่อยที่สุดคือการให้ MSCs ทางการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ในขนาด 1-2 ล้านเซลล์ต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (ประมาณ 50-150 ล้านเซลล์)^{26,27} โดยต้องระมัดระวังในเรื่องผลข้างเคียงที่เกิดจากการให้เซลล์ในปริมาณสูงหรือให้อัตราเร็วเกินไปซึ่งอาจทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนที่เป็น

อันตรายแก่ชีวิตได้เพราะเซลล์ส่วนใหญ่จะผ่านไปยังเส้นเลือดฝอยในปอดและถูกดักจับบริเวณนี้ก่อนที่จะกระจายไปยังอวัยวะอื่นอย่างช้าๆ ต่อไป (pulmonary first-pass effect)^{28,29} ในการศึกษาวิจัยส่วนใหญ่นิยมให้ MSCs ในผู้ป่วยผู้ใหญ่ในอัตราเร็ว 2 ล้านเซลล์/นาที่ (2 มล./นาที่) โดยอัตราเร็วสุดอยู่ที่ 15 ล้านเซลล์/นาที่ (6 มล./นาที่) และควรติดตามวัดระดับความอิ่มตัวของออกซิเจนจากปลายนิ้วเป็นระยะ

สำหรับในประเทศไทยพบว่ามีการนำ MSCs มาใช้รักษากันอย่างแพร่หลายในวงการแพทย์ทางเลือกโดยเฉพาะในคลินิกด้านความงามและเวชศาสตร์ชะลอวัยและการฟื้นฟูสุขภาพ ซึ่งจากประสบการณ์ของผู้เขียนและข้อมูลที่ได้รับจากผู้ป่วยที่มาปรึกษาพบว่ามีความถี่ของการใช้ MSCs ที่มากกว่าที่มีข้อมูลจากงานวิจัยในต่างประเทศ และมีการใช้ MSCs ที่มาจากผู้อื่น (allogeneic source) มากกว่าของตนเอง (autologous source) เนื่องจากหาได้ง่ายและมีราคาถูกกว่า

ข้อมูลด้านความปลอดภัยของการใช้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ในมนุษย์

จากการประเมินข้อมูลจากการศึกษาวิจัยจำนวน 765 งานวิจัยที่มีในฐานข้อมูล pubmed¹ พบว่ามีการติดตามข้อมูลด้านความปลอดภัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการรักษาด้วยเซลล์ MSCs ในทุกการศึกษา และพบว่าการรักษาด้วย MSCs มีข้อมูลความปลอดภัยที่ดีและไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการให้ยาหลอก ไม่พบภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงที่สัมพันธ์กับการได้รับ MSCs ในระยะเวลาที่ติดตาม อย่างไรก็ตามเนื่องจากการรักษาด้วย MSCs ยังเป็นการรักษาใหม่ที่ยังมีข้อมูลความปลอดภัยในระยะยาวอย่างจำกัด จึงมีประเด็นที่โลหิตแพทย์และแพทย์ผู้เกี่ยวข้องควรทราบดังนี้

1) ความเข้ากันได้ของระบบภูมิคุ้มกันต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (MSCs immune compatibility)

ข้อมูลจากการศึกษาในระยะแรกของการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ในผู้รับที่มีภูมิคุ้มกันทำงานปกติ (allogeneic unrelated immune-competent recipients) ไม่พบปัญหาเรื่องปฏิกิริยาการต่อต้านเซลล์ของผู้ให้ ทำให้เกิดสมมติฐานว่าการรักษาด้วยการให้ MSCs ไม่กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาการต่อต้านเซลล์ (immune reaction) หรือกล่าวได้ว่า MSCs มีอภิสิทธิ์ทางภูมิคุ้มกัน (immune privilege)²⁷ อย่างไรก็ตามข้อมูลในสัตว์ทดลองพบว่าการรักษาให้ผลดีขึ้นเมื่อใช้ MSCs ที่มาจากสัตว์ทดลองที่มีเนื้อเยื่อเข้ากันได้ (major histocompatibility complex (MHC)-matched cells)²⁷ นอกจากนี้ยังมีผลการวิจัยที่แสดงอย่างชัดเจนว่า MSCs

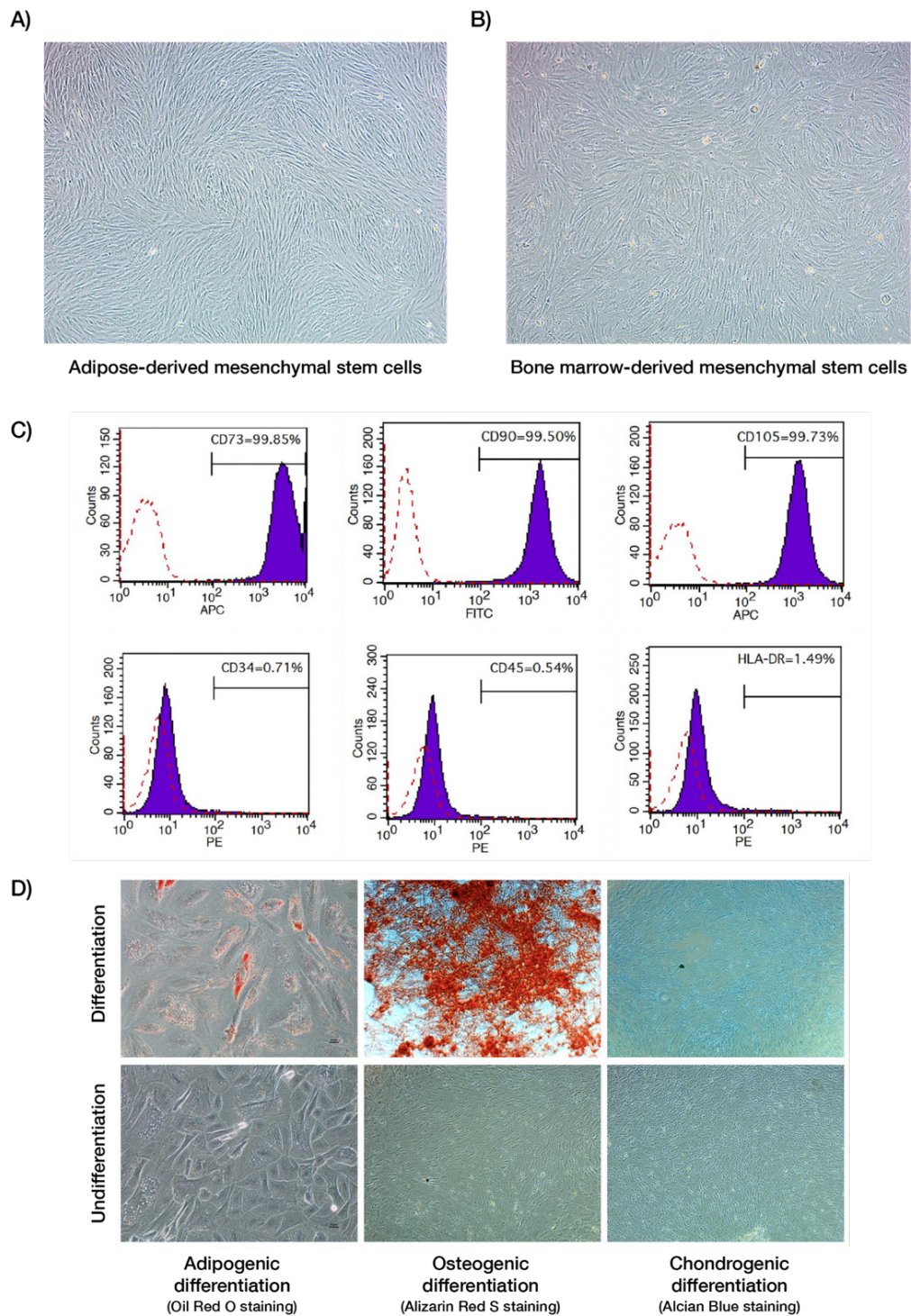


Figure 1 Phenotypes and properties of cultured mesenchymal stromal cells (MSCs). Comparison of mesenchymal stromal cells (MSCs) isolated from adipose (A) and bone marrow (B) tissues and cultured for 14 days. Undifferentiated MSCs showed spindle shaped morphology on tissue culture plastic flasks. (C) Flow cytometry analysis using BD FACSCalibur™ demonstrated that MSC were uniformly positive for CD73, CD90 and CD105 expression ($\geq 95\%$) and negative for CD34, CD45 and HLA-DR ($\leq 2\%$) according to minimal criteria by The International Society of Cellular Therapy. (D) Adipogenic (Left), osteogenic (Middle) and Chondrogenic (Right) differentiation of MSCs after *in vitro* differentiation for 28 days. Differentiated cells were stained with Oil Red O, Alizarin Red S and Alcian Blue, respectively (Credit: Dr. Warut Tulalamba, Siriraj Excellent Center in Advanced Gene and Cellular Therapy (Si-COE-AGCT), Faculty of Medicine Siriraj Hospital)

Table 1 Examples of clinical research and administration of mesenchymal stromal cells (MSCs) in different diseases

Disease	MSCs source	MSCs dose and administration route	Follow-up period
Refractory acute graft versus host disease (GVHD) in pediatric patients ¹⁴	allogeneic BM	2 MC/kg biweekly x 4 weeks IV	100 days
Osteoarthritis ^{15, 16}	allogeneic UCB	12-20 MC once IA	7 years
	autologous BM	10 or 100 MC once IA	4 years
Type 1 diabetes mellitus ¹⁷	allogeneic UC	15-32 MC twice IV (4 weeks interval)	24 months
Type 2 diabetes mellitus ¹⁸	allogeneic BM	0.3-2 MC/kg once IV	12 weeks
Diabetic foot ulcer ¹⁹	allogeneic UC	16-24 MC once IM + 3-5 MC SC	12 weeks
Alcoholic cirrhosis ²⁰	autologous BM	50 MC once or twice (4 weeks interval) hepatic arterial injection	6 months
Heart failure and reduced ejection fraction (HFrEF) ²¹	allogeneic UC	1 MC/kg once IV	12 months
Chronic ischemic stroke ²²	allogeneic BM	0.5-1.5 MC/kg once IV	12 months
Autism spectrum disorder ²³	allogeneic UC	36 MC x4 times (12 weeks interval) IV	21 months
Erectile dysfunction ²⁴	autologous adipose	22+/-8.7 MC once intracavernous injection	12 months
COVID-19 ARDS ²⁵	allogeneic UC	100+/-20 MC twice IV (3 days interval)	31 days

ARDS, acute respiratory distress syndrome; BM, bone marrow; IA, intraarticular; IV, intravenous; MC, million cells; SC, subcutaneous; UC, umbilical cord; UCB, umbilical cord blood

ของมนุษย์มีการแสดงออกของโปรตีน human leukocyte antigen (HLA) ในระบบ MHC class I บนผิวของเซลล์เหมือนเซลล์ในร่างกายชนิดอื่น^{30,31} และ MSCs มีการสังเคราะห์แอนติเจน HLA ในระบบ MHC class II ซึ่งจะแสดงออกมาบนผิวเซลล์เมื่ออยู่ในภาวะการอักเสบได้ เช่น ภายหลังการกระตุ้นด้วย interferon- γ ^{31,32} นอกจากนี้เซลล์ MSCs ที่พัฒนาต่อไปเป็นเซลล์ปลายทาง เช่น เซลล์กระดูก ไขมันและกระดูกอ่อนพบว่ามีการแสดงออกของ MHC class I เช่นกัน³³

การแสดงออกของยีนระบบ MHC เป็นโปรตีน HLA จากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้รับจากบุคคลอื่น (allogeneic MSCs) นี้เองจะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันที่เรียกว่า anti-HLA antibody ในกรณีนี้ที่ผู้ให้และผู้รับมีความไม่เข้ากันของเนื้อเยื่อ (HLA mismatch) ซึ่งผลการศึกษาในหนูทดลองให้ผลสอดคล้องว่าการได้รับ MHC-mismatched MSCs ที่สร้างจากเซลล์เนื้อเยื่อสายสะดือแรกเกิดจะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต้านทานชนิด anti-HLA antibody ได้เมื่อฉีดเซลล์เข้าใต้ผิวหนังที่มีการอักเสบ หรือเมื่อฉีด MSCs

ที่ได้รับการกระตุ้นก่อนด้วย interferon- γ นอกจากนี้ระดับภูมิคุ้มกันจะเกิดใน ระดับ สูงมากเมื่อมีการฉีด MSCs เข้าชั้นใต้ผิวหนัง (subcutaneous injection) ซ้ำเป็นครั้งที่ 2 แม้ว่าในขณะนั้นสัตว์ทดลองจะไม่ได้อยู่ในภาวะอักเสบแต่อย่างใด³⁴

สำหรับการศึกษาวิจัยในมนุษย์พบว่างานวิจัยเกือบทั้งหมดที่ผู้เขียนได้ทบทวนไม่ได้ทำการศึกษาด้านความปลอดภัยในเรื่องการสร้างภูมิคุ้มกันที่เกิดภายหลังการได้รับเซลล์ MSCs อาจเนื่องจากลักษณะงานวิจัยส่วนใหญ่เป็นการได้รับ MSCs เพียงไม่กี่ครั้งในช่วงระยะเวลาที่สั้น (phase 1 หรือ 2) แต่มีตัวอย่างการศึกษาในมนุษย์ที่สำคัญในประเด็นดังกล่าวจากประเทศเดนมาร์กที่ทำการศึกษาวิจัยระยะที่ 1 โดยการฉีด MSCs ที่มาจากเนื้อเยื่อไขมันผู้บริจาคที่กลั่นเนื้อหัวใจในผู้ป่วยจำนวน 10 รายที่เป็นโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดและมีภาวะหัวใจล้มเหลวเรื้อรัง พบว่าผู้ป่วย 5 จาก 10 รายมี anti-HLA antibody ในระบบ HLA class I เกิดขึ้น ภายในระยะเวลา 1-3 เดือนภายหลังการได้รับเซลล์ MSCs³⁵

การตรวจพบ anti-HLA antibody มีความสำคัญทางคลินิก เพราะไม่เพียงแต่จะมีผลต่อความสำเร็จจากการรักษาด้วยการปลูกถ่ายอวัยวะหรือการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดจากผู้บริจาคที่มี HLA ตรงกับ anti-HLA antibody ของผู้รับเท่านั้น^{36,37} หากแต่ยังส่งผลในเรื่องของการรับหรือให้ผลิตภัณฑ์จากเลือดอีกด้วย กล่าวคือ ในผู้ป่วยที่จำเป็นต้องได้รับเกล็ดเลือด หากผู้รับมี anti-HLA antibody ที่ตรงกับชนิด HLA จากผู้บริจาค จะทำให้เกิดเลือดที่ให้ออกไปอย่างรวดเร็วจนไม่ตอบสนองต่อการรักษา จำนวนเกล็ดเลือดไม่เพิ่มขึ้นตามที่ควรจะเป็น เรียกว่าภาวะ platelet refractoriness³⁸ และ anti-HLA antibody ที่พบไม่ว่าจะในผู้รับเลือดหรือผู้บริจาคเลือดอาจนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนภายหลังการให้เลือดชนิด transfusion related acute lung injury (TRALI) จากปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกันที่ anti-HLA antibody กระตุ้นให้เซลล์ภูมิคุ้มกันของผู้รับเลือดมารวมตัวกันที่เส้นเลือดฝอยในปอด และในอวัยวะอื่น เช่น ตับ เกิดกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน (acute respiratory distress syndrome) ภายในเวลา 6 ชั่วโมงหลังได้รับเลือด ซึ่งเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิตได้หากไม่ได้รับการรักษาทันที่³⁹⁻⁴¹ จึงมีคำแนะนำจากสมาพันธ์ธนาคารโลหิตแห่งประเทศไทย (American Association of Blood Bank, AABB) ว่าธนาคารเลือดจะต้องมีมาตรการในการลดความเสี่ยงในการเตรียมผลิตภัณฑ์เลือดที่มีปริมาณพลาสมาสูงจากผู้บริจาคที่มีประวัติหรือมีความเสี่ยงที่จะมีภูมิคุ้มกันต่อเม็ดเลือดขาว เพื่อลดอุบัติการณ์ของการเกิด TRALI⁴²

เป็นที่น่าสังเกตว่าในปัจจุบันยังมีความเข้าใจผิดในวงกว้างทั้งในวงวิชาการและในทางเวชปฏิบัติ โดยมีบทความที่กล่าวอย่างชัดเจนว่า MSCs ไม่มีการแสดงออกของ MHC⁴³ อันนำไปสู่ความเข้าใจผิดและการเผยแพร่ความรู้ที่ไม่ถูกต้องในทางเวชปฏิบัติ โดยเฉพาะมีการสอนเรื่องการนำ MSCs ในวงการแพทย์ทางเลือกด้านเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพในประเทศไทยที่ยังคงมองข้ามในเรื่องดังกล่าว⁴⁴ ส่งผลให้มีการนำ allogeneic MSCs กันอย่างแพร่หลายในคลินิกและสถานความงามหลายแห่ง โดยหนึ่งในผลกระทบที่สำคัญจากการนำ MSCs มาใช้ทางเวชปฏิบัติดังกล่าว คือผลต่องานให้บริการด้านธนาคารเลือด ในปัจจุบันแบบสอบถามคัดกรองของการรับบริจาคโลหิตในประเทศไทยยังไม่ครอบคลุมประวัติการได้รับการรักษาด้วย MSCs มาก่อน

2) ความเสี่ยงด้านการติดเชื้อจากการได้รับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (Infectious risk from MSCs administration)

เนื่องจากการเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ต้องผ่านกระบวนการเพาะเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้เพียงพอต่อการใช้ในการแพทย์ ดังนั้นแพทย์ผู้รักษาจำเป็นต้องทราบถึง

รายละเอียดด้านความปลอดภัยในกระบวนการผลิตและขั้นตอนการตรวจสอบการปนเปื้อนของ MSCs ที่เป็นมาตรฐาน กล่าวคือ

2.1) การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้องทำในห้องปฏิบัติการที่ได้การรับรองมาตรฐานสากล เช่น มาตรฐาน GMP (Good manufacturing practice) ซึ่งในแต่ละประเทศจะมีกฎหมายควบคุมมาตรฐานแตกต่างกันไป มาตรฐานของสมาพันธ์ธนาคารโลหิตแห่งประเทศไทย (AABB Standards for Cellular Therapy Services⁴⁵) และมาตรฐานของ Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT Common Standards for Cellular Therapies⁴⁶) เป็นต้น สำหรับในประเทศไทยการควบคุมมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการยังอยู่ในระหว่างกระบวนการออกกฎหมายเพื่อบังคับให้ผู้ผลิตเซลล์ทางการแพทย์ขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์และห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน GMP ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ขั้นสูงชนิดผลิตภัณฑ์เซลล์บำบัดโดยเฉพาะในกรณีการใช้เซลล์จากผู้บริจาค (allogeneic use) ทั้งนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้ออก “มาตรฐานห้องปฏิบัติการเซลล์ทางการแพทย์” ในปี พ.ศ. 2563 ซึ่งระบุข้อกำหนดพื้นฐานทั่วไปของห้องปฏิบัติการเซลล์ทางการแพทย์เกี่ยวกับความสามารถของห้องปฏิบัติการในการผลิตเซลล์จากมนุษย์หรือสิ่งมีชีวิตอื่น⁴⁷

2.2) กรรมวิธีการผลิตเพาะเลี้ยงเซลล์ ข้อมูลในด้านกระบวนการ ผลิตและสิ่งแวดล้อมประกอบที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์มีความแตกต่างกันไป แต่ละห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่มีการใช้น้ำยาเพาะเลี้ยงหรือ growth factors ที่มาจากสัตว์อาจมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน เช่น fetal bovine serum (FBS) เป็นสารที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเซลล์ อาจกระตุ้นให้เกิดการแพ้ในผู้ที่มีประวัติการแพ้ หรืออาจมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อโรคที่พบไม่บ่อยจากสัตว์ได้ หนึ่งในทางเลือกเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ส่วนประกอบจากสัตว์คือการใช้น้ำยาเพาะเลี้ยงที่ปราศจากการใช้สารที่สกัดมาจากสัตว์ (xeno free) ซึ่งอาจทำให้มีค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตสูงขึ้น

2.3) กระบวนการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อโรค ข้อมูลสำคัญที่แพทย์ควรทราบคือ มีการตรวจคัดกรองการปนเปื้อนเชื้อโรคที่ครอบคลุมเชื้อชนิดใดบ้าง โดยกระบวนการตรวจสอบควรเริ่มตั้งแต่การซักประวัติของผู้บริจาค (กรณีใช้เซลล์จากผู้บริจาค) ไปจนถึงการเทคนิคทดสอบทางห้องปฏิบัติการ ในทางปฏิบัติชนิดของเชื้อโรค ที่ทำการทดสอบจะถูกกำหนดโดยมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งแต่ละมาตรฐานอาจมีการกำหนดชนิดของเชื้อไม่เท่ากัน โดยเซลล์ที่มาจากผู้บริจาคจะต้องผ่านการตรวจสอบการปนเปื้อนที่ ครอบคลุมชนิดของเชื้อมากกว่าเซลล์ที่มาจากตนเอง (autologous use) เช่น การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดใช้และ

ไม่ใช่ออกซิเจน เชื้อไมโครพลาสมา เชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซี เชื้อไวรัสเอชไอวี เชื้อซิฟิลิส เชื้อรา และอาจรวมไปถึงเชื้อก่อโรคที่พบบ่อยในแต่ละท้องถิ่น สิ่งที่ต้องพึงระลึกเสมอคือวิธีการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อแต่ละวิธีอาจมีความไวไม่เท่ากัน และมีช่วงระยะเวลาที่อาจตรวจไม่พบในช่วงแรกของการติดเชื้อ (window period) แพทย์ผู้ใช้ MSCs จำเป็นต้องทราบถึงรายละเอียดดังกล่าวและสามารถให้คำแนะนำที่ถูกต้องเกี่ยวกับชนิดการตรวจคัดกรองการปนเปื้อนเชื้อโรคได้

3) ความเสี่ยงด้านพันธุกรรมจากการได้รับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (Genotoxic risk from MSCs)

เนื่องจากในกระบวนการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวน MSCs ในห้องปฏิบัติการ ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์หลายครั้งในงานเพาะเลี้ยง อาจก่อให้เกิดความผิดพลาดในขั้นตอนของการแบ่งนิวเคลียส อันนำไปสู่ความเสียหายของสารพันธุกรรม (DNA) ในเซลล์ MSCs รวมถึงกระตุ้นการแก่ตัวของ MSCs (senescence) ทำให้เซลล์ที่ได้สูญเสียคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดได้ อย่างไรก็ตามข้อมูลการศึกษาวิจัยในช่วง 20 กว่าปีที่ผ่านมา ยังไม่พบว่าความเสี่ยงของการเกิดความไม่เสถียรของสารพันธุกรรม (genetic instability) นี้ทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ภายหลังจากการรักษาด้วย MSCs⁴⁸ นอกจากนี้ยังไม่มีข้อมูลว่าความผิดปกติทางพันธุกรรมที่มาจากเซลล์ตั้งต้นของผู้บริจาคเอง เช่น ความเสี่ยงทางพันธุกรรมในการก่อโรคมะเร็ง (inherited cancer risk) มีผลเพิ่มความเสี่ยงหรือส่งผลกระทบต่อในระยะยาวในผู้รับการรักษา อย่างไรก็ตาม การติดตามผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นในระยะยาวยังมีความจำเป็นในการสรุปประเด็นความเสี่ยงดังกล่าว

การตรวจโครโมโซม (Karyotype) อาจช่วยคัดกรองความผิดปกติของจีโนม (genome) ขนาดใหญ่ภายหลังการเพาะเลี้ยง MSCs ได้ อย่างไรก็ตามการตรวจดังกล่าวไม่สามารถตรวจพบความผิดปกติของโครโมโซมขนาดเล็กได้⁴⁹ ในงานวิจัยส่วนใหญ่ใช้ MSCs ที่ผ่านการเปลี่ยนงานเพาะเลี้ยง (subculture) 2 ครั้ง หรือ 2 passages ในทางปฏิบัติกรณีที่ต้องใช้เซลล์ในปริมาณมากแนะนำให้ใช้ MSCs ที่ผ่านการเปลี่ยนงานเพาะเลี้ยงไม่เกิน 5 ครั้ง เนื่องจากพบว่าภายหลังจากการเปลี่ยนงานเพาะเลี้ยงครั้งที่ 6 เป็นต้นไป เซลล์ MSCs จะมีความยาวของ telomere ที่ลดลงมากขึ้นชัดเจน ความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนลดลงและสูญเสียความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เนื้อเยื่อปลายทาง⁴⁹ การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพและประสิทธิผลจากการรักษาด้วย MSCs ได้

4) ความเสี่ยงในการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันจากการได้รับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (Thrombogenic risk from MSCs)

นอกจากความเสี่ยงในการเกิดเส้นเลือดฝอยใหม่ปอดอุดตันซึ่งสัมพันธ์กับการให้เซลล์ MSCs ที่ไม่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีรายงานการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดดำที่แขนภายหลังการรักษาด้วยการให้เซลล์ MSCs ทางหลอดเลือดดำในผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรัง จำนวน 2 ราย⁵⁰ โดยผู้ป่วยเกิดอาการจากภาวะลิ่มเลือดอุดตันบริเวณแขนข้างที่ได้รับเซลล์ภายหลังการได้รับการรักษา 2 และ 3 วันตามลำดับ โดยผู้ป่วยหนึ่งรายได้รับการสกรีนเลือดแข็งตัวร่วมด้วย ข้อมูลการศึกษาวิจัยพบว่า MSCs มีความสามารถในการกระตุ้นระบบการแข็งตัวของเลือดได้หลายกลไก ผู้อ่านสามารถหาอ่านเพิ่มเติมได้จากบทความอื่น⁵¹

สรุป

การรักษาด้วยเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ หรือ MSCs เป็นการรักษาด้วยเซลล์บำบัด (Cellular therapy) ที่มีข้อมูลผลการศึกษาวิจัยในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาเป็นจำนวนมากในหลายกลุ่มโรค และอาจจะเป็นการรักษามาตรฐานต่อไปได้ในอนาคต นอกเหนือไปจากข้อมูลด้านผลการรักษาแล้วแพทย์ผู้ควรทราบถึงปัจจัยด้านความปลอดภัยและสามารถอธิบายความเสี่ยงของการเกิดผลแทรกซ้อนทั้งในระยะสั้นและระยะยาวจากการรักษาด้วยเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ได้ สามารถเปรียบเทียบข้อมูลในโรคที่ทำการรักษาว่ามีทางเลือกใดเหมาะสมมากที่สุด (ถ้ามี) เช่น เปรียบเทียบผลการรักษา ระหว่าง allogeneic หรือ autologous MSCs หรือระหว่าง MSCs ที่มาจากเนื้อเยื่อไขกระดูกหรือจากไขมัน เพื่อให้สามารถเลือกใช้ MSCs ที่เหมาะสมและลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นได้โดยไม่จำเป็น โดยเฉพาะโลหิตแพทย์ควรตระหนักถึงความเสี่ยงของการเกิด anti-HLA antibody ในผู้ป่วยที่ได้รับ allogeneic MSCs เพื่อให้คำแนะนำในการใช้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ได้อย่างถูกต้องต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. National Library of Medicine, National Centre for Biotechnology Information [Internet]. [cited June 15, 2021]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Mesenchymal+stem+cell&filter=pubt.clinicaltrial&filter=hum_ani.humans.
2. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. 1991;9:641-50.
3. Viswanathan S, Shi Y, Galipeau J, Krampera M, Leblanc K, Martin I, et al. Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT(R)) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature. *Cytotherapy*. 2019;21:1019-24.

4. da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci.* 2006;119(Pt 11):2204-13.
5. Ankrum JA, Ong JF, Karp JM. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. *Nat Biotechnol.* 2014;32:252-60.
6. Aithal AP, Bairy LK, Seetharam RN. Safety and therapeutic potential of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in regenerative medicine. *Stem Cell Investig.* 2021;8:10.
7. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8:315-7.
8. Squillaro T, Peluso G, Galderisi U. Clinical Trials With Mesenchymal Stem Cells: An Update. *Cell Transplant.* 2016;25:829-48.
9. Andrzejewska A, Lukomska B, Janowski M. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: From Roots to Boost. *Stem Cells.* 2019;37:855-64.
10. Jiang W, Xu J. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Cell Prolif.* 2020;53:e12712.
11. El Haddad N, Heathcote D, Moore R, Yang S, Azzi J, Mfarrej B, et al. Mesenchymal stem cells express serine protease inhibitor to evade the host immune response. *Blood.* 2011;117:1176-83.
12. Ringden O, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lonnies H, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation.* 2006;81:1390-7.
13. von Bahr L, Batsis I, Moll G, Hagg M, Szakos A, Sundberg B, et al. Analysis of tissues following mesenchymal stromal cell therapy in humans indicates limited long-term engraftment and no ectopic tissue formation. *Stem Cells.* 2012;30:1575-8.
14. Kurtzberg J, Prockop S, Teira P, Bittencourt H, Lewis V, Chan KW, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cell therapy (remestemcel-L, Prochymal) as a rescue agent for severe refractory acute graft-versus-host disease in pediatric patients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20:229-35.
15. Park YB, Ha CW, Lee CH, Yoon YC, Park YG. Cartilage Regeneration in Osteoarthritic Patients by a Composite of Allogeneic Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells and Hyaluronate Hydrogel: Results from a Clinical Trial for Safety and Proof-of-Concept with 7 Years of Extended Follow-Up. *Stem Cells Transl Med.* 2017;6:613-21.
16. Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, Granero-Molto F, Nunez-Cordoba JM, Lopez-Elio S, et al. Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: long-term follow up of a multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med.* 2018;16:213.
17. Hu J, Yu X, Wang Z, Wang F, Wang L, Gao H, et al. Long term effects of the implantation of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells from the umbilical cord for newly-onset type 1 diabetes mellitus. *Endocr J.* 2013;60:347-57.
18. Skyler JS, Fonseca VA, Segal KR, Rosenstock J, Investigators M-D. Allogeneic Mesenchymal Precursor Cells in Type 2 Diabetes: A Randomized, Placebo-Controlled, Dose-Escalation Safety and Tolerability Pilot Study. *Diabetes Care.* 2015;38:1742-9.
19. Li XY, Zheng ZH, Li XY, Guo J, Zhang Y, Li H, et al. Treatment of foot disease in patients with type 2 diabetes mellitus using human umbilical cord blood mesenchymal stem cells: response and correction of immunological anomalies. *Curr Pharm Des.* 2013;19:4893-9.
20. Suk KT, Yoon JH, Kim MY, Kim CW, Kim JK, Park H, et al. Transplantation with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: Phase 2 trial. *Hepatology.* 2016;64:2185-97.
21. Bartolucci J, Verdugo FJ, Gonzalez PL, Larrea RE, Abarzua E, Goset C, et al. Safety and Efficacy of the Intravenous Infusion of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells in Patients With Heart Failure: A Phase 1/2 Randomized Controlled Trial (RIMECARD Trial [Randomized Clinical Trial of Intravenous Infusion Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on Cardiopathy]). *Circ Res.* 2017;121:1192-204.
22. Levy ML, Crawford JR, Dib N, Verkh L, Tankovich N, Cramer SC. Phase I/II Study of Safety and Preliminary Efficacy of Intravenous Allogeneic Mesenchymal Stem Cells in Chronic Stroke. *Stroke.* 2019;50:2835-41.
23. Riordan NH, Hincapie ML, Morales I, Fernandez G, Allen N, Leu C, et al. Allogeneic Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Autism Spectrum Disorder in Children: Safety Profile and Effect on Cytokine Levels. *Stem Cells Transl Med.* 2019;8:1008-16.
24. Haahr MK, Harken Jensen C, Toyserkani NM, Andersen DC, Damkier P, Sorensen JA, et al. A 12-Month Follow-up After a Single Intracavernous Injection of Autologous Adipose-Derived Regenerative Cells in Patients with Erectile Dysfunction Following Radical Prostatectomy: An Open-Label Phase I Clinical Trial. *Urology.* 2018;121:203 e6- e13.
25. Lanzoni G, Linetsky E, Correa D, Messinger Cayetano S, Alvarez RA, Kouroupis D, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells for COVID-19 acute respiratory distress syndrome: A double-blind, phase 1/2a, randomized controlled trial. *Stem Cells Transl Med.* 2021;10:660-73.
26. Kabat M, Bobkov I, Kumar S, Grumet M. Trends in mesenchymal stem cell clinical trials 2004-2018: Is efficacy optimal in a narrow dose range? *Stem Cells Transl Med.* 2020;9:17-27.
27. Galipeau J, Sensebe L. Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities. *Cell Stem Cell.* 2018;22:824-33.
28. Fischer UM, Harting MT, Jimenez F, Monzon-Posadas WO, Xue H, Savitz SI, et al. Pulmonary passage is a major obstacle for intravenous stem cell delivery: the pulmonary first-pass effect. *Stem Cells Dev.* 2009;18:683-92.

29. Gao J, Dennis JE, Muzic RF, Lundberg M, Caplan AI. The dynamic in vivo distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion. *Cells Tissues Organs*. 2001;169:12-20.
30. Isa A, Nehlin JO, Sabir HJ, Andersen TE, Gaster M, Kassem M, et al. Impaired cell surface expression of HLA-B antigens on mesenchymal stem cells and muscle cell progenitors. *PLoS One*. 2010;5:e10900.
31. Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, Egalka MC, Guinan EC. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation*. 2003;75:389-97.
32. Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol*. 2003;31:890-6.
33. Gotherstrom C, Ringden O, Tammik C, Zetterberg E, Westgren M, Le Blanc K. Immunologic properties of human fetal mesenchymal stem cells. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190:239-45.
34. Cho PS, Messina DJ, Hirsh EL, Chi N, Goldman SN, Lo DP, et al. Immunogenicity of umbilical cord tissue derived cells. *Blood*. 2008;111:430-8.
35. Kastrop J, Haack-Sorensen M, Juhl M, Harary Sondergaard R, Follin B, Drozd Lund L, et al. Cryopreserved Off-the-Shelf Allogeneic Adipose-Derived Stromal Cells for Therapy in Patients with Ischemic Heart Disease and Heart Failure-A Safety Study. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6:1963-71.
36. Argani H. Anti-HLA Antibody: The Role of Epitopes in Organ Transplantation. *Exp Clin Transplant*. 2019;17(Suppl 1):38-42.
37. Montgomery RA, Tatapudi VS, Leffell MS, Zachary AA. HLA in transplantation. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14:558-70.
38. Pena JR, Saidman SL. Anti-HLA antibody testing in hematology patients. *Am J Hematol*. 2015;90:361-4.
39. Bux J, Becker F, Seeger W, Kilpatrick D, Chapman J, Waters A. Transfusion-related acute lung injury due to HLA-A2-specific antibodies in recipient and NB1-specific antibodies in donor blood. *Br J Haematol*. 1996;93:707-13.
40. Sachs UJ, Bux J. TRALI after the transfusion of cross-match-positive granulocytes. *Transfusion*. 2003;43:1683-6.
41. Cherry T, Steciuk M, Reddy VV, Marques MB. Transfusion-related acute lung injury: past, present, and future. *Am J Clin Pathol*. 2008;129:287-97.
42. Strong DM, Lipton KS. Association Bulletin #06-07. Transfusion-related acute lung injury. Bethesda (MD): American Association of Blood Banks; 2006.
43. Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells*. 2019;8.
44. Association of Cell Therapy, Thai. Introduction to Practical Cell Therapy [Internet]. [cited June 15, 2021]. http://www.celltherapythai.or.th/news_details.php?id=27
45. American Association of Blood Bank. Standards for Cellular Therapy Services, 10th Edition: American Association of Blood Bank; 2021 July 1.
46. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy. Common Standards for Cellular Therapies, 2nd Edition: Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy 2019.
47. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Standard for Cellular Laboratory (Thai) [Internet]. 2563 [cited September 25, 2021]. Available from: <http://msto.dmsc.moph.go.th/login/showimgdetil.php?id=285>
48. Neri S. Genetic Stability of Mesenchymal Stromal Cells for Regenerative Medicine Applications: A Fundamental Biosafety Aspect. *Int J Mol Sci*. 2019;20.
49. Bonab MM, Alimoghaddam K, Talebian F, Ghaffari SH, Ghavamzadeh A, Nikbin B. Aging of mesenchymal stem cell in vitro. *BMC Cell Biol*. 2006;7:14.
50. Wu Z, Zhang S, Zhou L, Cai J, Tan J, Gao X, et al. Thromboembolism Induced by Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Infusion: A Report of Two Cases and Literature Review. *Transplant Proc*. 2017;49:1656-8.
51. Coppin L, Sokal E, Stephenne X. Thrombogenic Risk Induced by Intravascular Mesenchymal Stem Cell Therapy: Current Status and Future Perspectives. *Cells*. 2019;8:1160.